



TITLE:

Pluripotent cell models of Fanconi anemia  
identify the early pathological defect in  
human hemoangiogenic progenitors(  
Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

Suzuki, Naoya

---

CITATION:

Suzuki, Naoya. Pluripotent cell models of Fanconi anemia identify the early pathological defect in human hemoangiogenic progenitors. 京都大学, 2015, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18906>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医科学 ）	氏 名	鈴木 直也
論文題目	Pluripotent cell models of Fanconi anemia identify the early pathological defect in human hemoangiogenic progenitors (ファンコニー貧血患者由来 iPS 細胞を用いた、造血・血管内皮前駆細胞の性状評価)		
(論文内容の要旨)			
<p>ファンコニー貧血( Fanconi anemia : FA )は、再生不良性貧血などの造血不全や発育異常、及び高い発がん率を特徴とする稀な遺伝性疾患である。FA 患者の細胞は、マイトマイシン C( Mitomycin C : MMC )やシスプラチンなどの DNA 鎖間結合を誘起する薬剤に対して、高い感受性を示すことが知られている。この疾患の原因遺伝子である FANC 遺伝子群は細胞内外からのストレスによって生じる DNA 鎖間結合や DNA 鎖内結合による DNA 損傷の修復に関わっていることが示唆されており、FA 経路と呼ばれている。FA 経路と造血不全の関係性に関しては、世界中で盛んに研究が行われ、この十数年で飛躍的に理解が進んできた。しかし、FA 患者では、発生期のいつ頃から造血不全が起きているかどうかについては、マウス、ヒトともに肝造血での造血幹細胞の減少が報告されているが、これより以前に関しては依然詳しくわかっていない。そこで、FA 貧血患者由来 iPS 細胞を作製し、それを用いることで発生初期段階における造血不全に関して調べた。</p> <p>初めに、FA 患者から iPS 細胞を樹立するため、レトロウイルスを用いて FANCA 遺伝子変異を持つ FA 患者の線維芽細胞へ iPS 細胞の誘導因子(OCT3/4、SOX2、KLF4、及び c-MYC)を導入した。しかし、FA 患者から iPS 細胞を樹立することはできなかった。そこで、より高効率での樹立を可能にする、エピソーマルベクターを用いて誘導因子(OCT3/4、SOX2、KLF4、L-MYC、LIN28、及び shp53)を導入した。すると、正常細胞に比べて明らかに低効率であったが、2 人の患者から ES 細胞様の形態を持つ iPS 細胞を樹立することができた。これらの iPS 細胞は異常な核型を示したが、多能性幹細胞マーカーの発現、及び三胚葉分化能を持つことが確認できた。また、FA 患者由来 iPS 細胞は MMC 処理により誘導された DNA 損傷個所への FANCD2-I 複合体の蓄積能が欠損していた。これらの結果から、FA 患者由来 iPS 細胞は FA 経路を欠損しているが、多能性を持つ細胞であることが示された。</p> <p>次に、FA 患者由来 iPS 細胞の血球分化能を調べた。一般に、iPS 細胞から誘導された、KDR/CD34 陽性の造血・血管内皮前駆細胞( Hemoangiogenic progenitor : HAP )は、OP9 細胞上で血球細胞へと分化が誘導できる。この分化系を用いて、FA 患者由来 HAP と FANCA を強制発現した FA 患者由来 HAP との間の血球分化能を比較した。結果、FA 患者由来 HAP から産生される血液細胞数は有意に低下していた。このことは、FA 患者由来 iPS 細胞が病態モデルとなることを示している。</p> <p>FA 患者由来 iPS 細胞が示した血球分化能の低下がいつ頃から起こっているかを調べるために、HAP での造血マーカー遺伝子の発現を、FANCA を強制発現した HAP との間で比較した。結果、FANCA が欠損した HAP では、有意に造血マーカー遺伝子の発現が減少していた。RNA seq による多遺伝子発現解析においても造血関連遺伝子の低下が見られた。加えて、その他多くの発生に関わる重要な遺伝子群の発現が低下していた。また、多能性幹細胞から血球細胞の各段階で FANCA の発現量を比較したところ、HAP で最も発現が高いことが確認でき、この細胞種における FA 経路の重要性を支持するものと考えられた。</p> <p>以上の結果から、FA 患者では造血発生の最初期である HAP の段階ですでに異常が起こっていると結論された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)
ファンコニー貧血( <b>Fanconi anemia</b> : <b>FA</b> )は、造血不全を主な特徴とする稀な遺伝性疾患である。 <b>FA</b> 原因遺伝子と造血不全の関係性に関する理解に対して、 <b>FA</b> 患者では、発生のどの時期から造血不全が起こりはじめているかについては、依然詳しくわかっていない。そこで、 <b>FA</b> 患者由来 <b>iPS</b> 細胞を作製し、それを用いることで発生初期段階における造血不全に関して調べた。
初めに、エピソーマルベクターを用いて <b>FANCA</b> 遺伝子変異を持つ <b>FA</b> 患者の線維芽細胞へ <b>iPS</b> 細胞の誘導因子を導入することで、低効率ながら、多能性幹細胞マーカーの発現、及び三胚葉分化能を持つ <b>iPS</b> 細胞を樹立できた。
次に、 <b>FA</b> 患者由来 <b>iPS</b> 細胞の血球分化能を調べた。一般に、 <b>iPS</b> 細胞から誘導された <b>Hemoangiogenic progenitor</b> : <b>HAP</b> は、 <b>OP9</b> 細胞上で血球細胞へと分化が誘導できる。この分化系を用いて、 <b>FA</b> 患者由来 <b>HAP</b> と <b>FANCA</b> を強制発現した <b>FA</b> 患者由来 <b>HAP</b> との間の血球分化能を比較した。結果、 <b>FA</b> 患者由来 <b>HAP</b> から産生される血液細胞数は有意に低下していた。
<b>FA</b> 患者由来 <b>iPS</b> 細胞が示した血球分化能の低下がいつ頃から起こっているかを調べるために、 <b>HAP</b> での造血マーカー遺伝子の発現を、 <b>FANCA</b> を強制発現した <b>HAP</b> との間で比較した。結果、 <b>FA</b> 患者由来 <b>HAP</b> では、造血マーカー遺伝子の発現が有意に低下していた。このことは、 <b>HAP</b> における <b>FA</b> 経路の重要性を示している。
以上の研究は <b>FA</b> 患者における造血不全の発症時期の解明に貢献しただけでなく、今後の類縁疾患解析の発展に寄与するところが多い。
したがって、本論文は博士（ 医科学 ）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 2 7 年 3 月 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日： 年 月 日以降